

## 开展血药分析以支持英国《道路交通安全法》第5节关于“药驾”的要求

---

Michelle Wood, Robert Lee

Waters Corporation

仅适用于法医毒理学应用。

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

---

### 摘要

本应用纪要详细介绍了为满足英国《1988年道路交通安全法》第5A节的要求而开发的样品前处理和UPLC-MS/MS方法<sup>1</sup>。

我们使用Waters Ostro直通式样品制备板开发出一种简单耐用的样品前处理方法。该前处理方法结合两种UPLC-MS/MS方法的其中一种即可定量法规中规定的所有分析物，定量限低于法案中规定的浓度。UPLC-MS/MS方法凸显出ACQUITY UPLC I-Class的色谱分离度与Xevo TQ-S micro质谱仪的灵敏度相结合的优势，二者提供了一个简单耐用的分析平台。

### 优势

- 使用Ostro直通式样品制备板（部件号：[186005518 <https://www.waters.com/nextgen/global/shop/sample-preparation--filtration/186005518-ostro-protein-precipitation--phospholipid-removal-plate-25-mg-1-.html>](https://www.waters.com/nextgen/global/shop/sample-preparation--filtration/186005518-ostro-protein-precipitation--phospholipid-removal-plate-25-mg-1-.html)）的单一样品前处理方案

- 分析程序只需100  $\mu$ L血样，对于样本量有限的应用非常有利
- 使用Waters ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>色谱柱（部件号：[186002352 < https://www.waters.com/nextgen/global/shop/columns/186002352-acquity-uplc-beh-c18-column-130a-17--m-21-mm-x-100-mm-1-pk.html>](https://www.waters.com/nextgen/global/shop/columns/186002352-acquity-uplc-beh-c18-column-130a-17--m-21-mm-x-100-mm-1-pk.html)）结合配备流通针(FTN)的ACQUITY UPLC I-Class，分离多种药物类别
- Xevo TQ-S micro质谱仪具有优异的灵敏度，能够检出法规限值相关的分析物浓度

## 简介

据报道，许多违禁药物和处方药物会削弱驾驶员对车辆的控制能力，增加发生道路交通事故的可能性<sup>2,3</sup>。自2015年3月起，英国开始实施新的药驾法案，该法案在现有法规的基础上做了更改，规定车辆驾驶员服用某些药物（包括合法药物）后血液浓度超过规定限值（表1）即属犯罪<sup>1</sup>。这些化合物大致分为两类：第一类为处方药（药物），要检测的血液浓度（阈值）相对较高，患者在开车时可以服用适量处方药，但不得过量。第二类是违禁化合物；对此类药物，采取零容忍方法来设定阈值以避免药物滥用。

处方药物	血液浓度阈值 (ng/mL)	违禁药物	血液浓度阈值 (ng/mL)
氯硝西洋	50	LSD	1
吗啡	80	$\Delta$ -9-THC (THC)	2
劳拉西洋	100	6-单乙酰吗啡(6-MAM)	5
奥沙西洋	300	可卡因	10
氟硝西洋	300	MDMA	10
美沙酮	500	甲基苯丙胺	10
地西洋	550	氯胺酮	20
替马西洋	1000	苯甲酰芽子碱	50
		安非他命	250

表1. 《1988年道路交通安全法》第5A节规定的管制药物以及规定限值

为支持该法规，采取的分析测试要能定量一组来自不同药物类别的药物，因此涉及一系列化学性质，包括极性物

质（如吗啡）和非极性物质（如THC）。如果需要通过一种简单的工作流程在规定浓度下检测所有相关分子，这种化学性质的多样性可能会带来一些分析挑战。

---

## 实验

人全血对照品由Bio-IVT（英国西萨塞克斯郡布杰斯希尔）提供。

17种目标分析物的标准品均购自Merck（英国多塞特郡普尔）或LGC（英国伦敦特丁顿），分别以1 mg/mL甲醇或乙腈溶液提供。合并分析物，制备混合药物加标溶液；使用甲醇进一步稀释。分析物的稳定标记内标也购自相同的供应商处，浓度为0.1 mg/mL。合并这些内标，得到混合氘代内标溶液(ISTD)。所有标准溶液都储存于-20°C下。

在全血中加入混合药物溶液以制备一系列浓度的溶液。

将对照或加标血液(100  $\mu$ L)添加到Ostro样品制备板的100  $\mu$ L 0.1 M硫酸锌/醋酸铵溶液孔中。加入内标并简单涡旋混合样品。将洗脱溶剂（600  $\mu$ L 0.5%甲酸的乙腈溶液）添加到样品中，将样品板进一步涡旋混合3分钟。将样品板置于真空萃取装置上，并在全真空下将洗脱溶剂吸入沃特世2 mL方孔收集板（部件号：[186002482 < https://www.waters.com/nextgen/global/shop/vials-containers--collection-plates/186002482-96-well-sample-collection-plate-2-ml-square-well-50-pk.html>](https://www.waters.com/nextgen/global/shop/vials-containers--collection-plates/186002482-96-well-sample-collection-plate-2-ml-square-well-50-pk.html)）中。

分别转移两等分(2 x 150  $\mu$ L) Ostro Eluant到1 mL圆孔收集板（部件号：[186002481 < https://www.waters.com/nextgen/global/shop/vials-containers--collection-plates/186002481-96-well-sample-collection-plate-800--l-round-well-50-pk.html>](https://www.waters.com/nextgen/global/shop/vials-containers--collection-plates/186002481-96-well-sample-collection-plate-800--l-round-well-50-pk.html)）中，使用Ultrapap Mistral蒸发器(Porvair Sciences)干燥。

将一份干燥的等分试样复溶于50  $\mu$ L含0.05%甲酸的50%乙腈溶液中，用于分析THC。将另一份干燥的等分试样复溶于50  $\mu$ L含0.05%甲酸的50%乙腈溶液中，用于分析所有其他药物。使用下文详述的UPLC-MS/MS方法之一定量样品。

两种UPLC-MS/MS方法采用相同的色谱柱（即ACQUITY BEH C<sub>18</sub> (2.1 x 100 mm, 1.7  $\mu$ m)）和相同的流动相（0.05%甲酸的水溶液（流动相A）和0.05%甲酸的乙腈溶液（流动相B）），但每种方法采用不同的色谱梯度。THC分析的初始条件为50%流动相B，而定量所有其他药物的方法初始条件为2%流动相B。两种方法均使用Xevo TQ-S micro在电喷雾正离子(ESI+)模式下运行，采用2个MRM通道监测每种分析物，采用单个MRM通道监测内标

。

---

## 结果与讨论

为解决有效复溶THC的难题以及吗啡和其他先洗脱碱性化合物的适度挑战，我们干燥了两份Ostro Eluant等分试样。第一份等分试样复溶于适合分析THC的溶剂中，另一份复溶于适合所有其他药物的溶剂中。为确保高通量，我们使用相同的色谱柱和流动相开发了两种UPLC-MS/MS方法。第一种方法用于定量THC，另一种方法用于定量所有其他分析物。

图1显示了全血添加1 ng/mL THC的色谱图。注意，本文所述的THC方案也适用于分析其他几种大麻素，即羟基-THC、羧基-THC、大麻酚和大麻二酚。图2显示了全血样品加标10 ng/mL所有其余违禁药物和处方药物的数据。

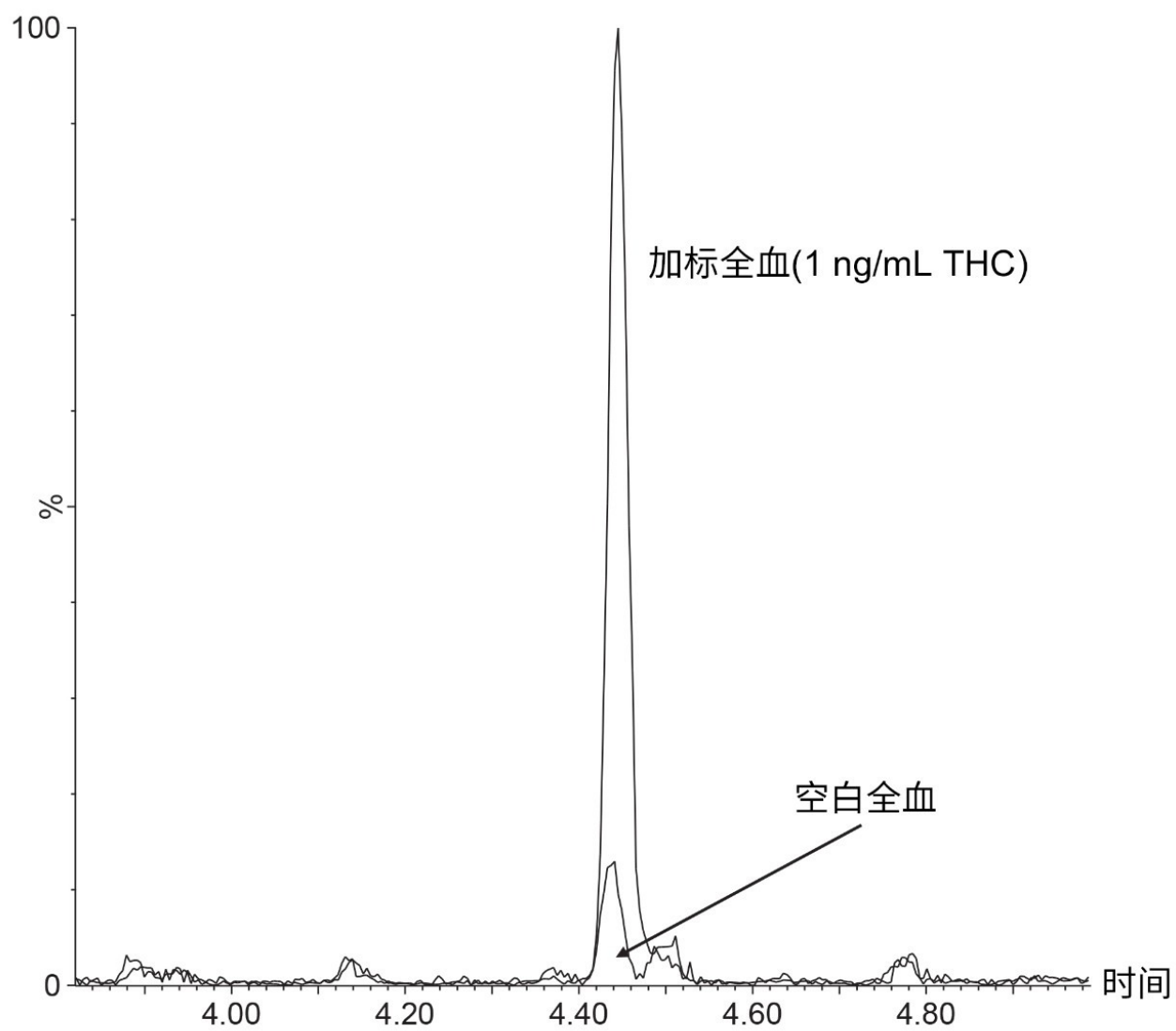


图1.加标全血中THC的定量迹线色谱图。还对比显示了空白全血样品的定量迹线响应。

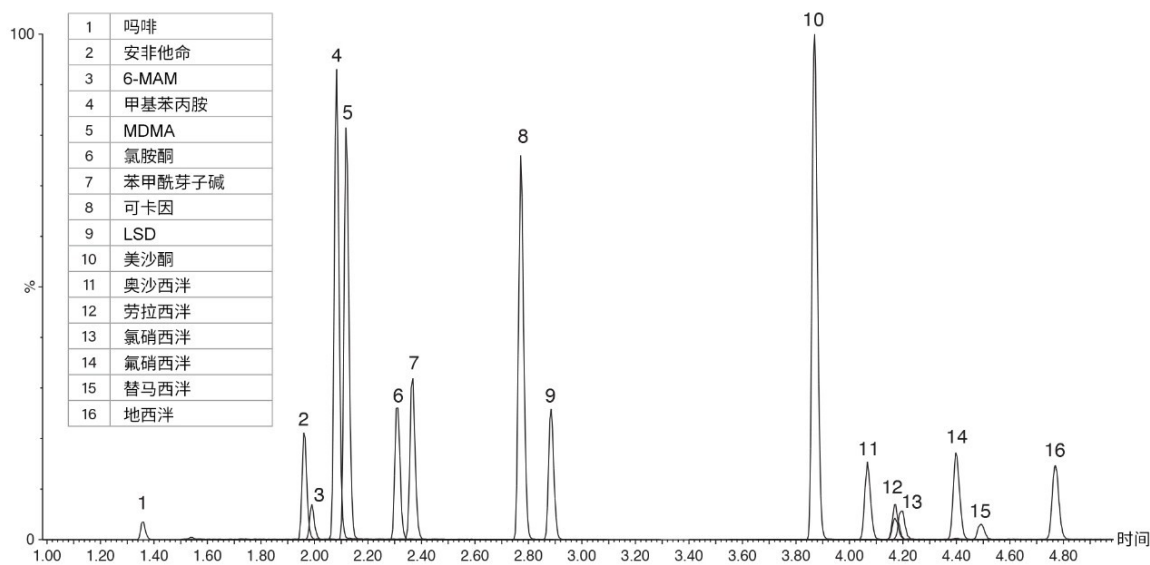


图2.全血样品加标一系列违禁药物和处方药物（浓度10 ng/mL）的色谱分离结果。数据放大为色谱图中的最强峰。

## 结论

随着驾驶员药检项目的增加，业界也愈加需要快速、准确、可靠和稳定的化合物定量方法。本应用纪要详细介绍了一套完整工作流程，能够使用Ostro直通式样品制备板测定全血中的多种药物。本文所述程序仅需100 μL血样，这对于样品量有限，尤其是需要多次分析样品的情况极为有利。

Xevo TQ-S micro质谱仪具有优异的灵敏度，能够检出法规限值相关的分析物浓度，而Ostro样品板使样品前处理方案能够在任何需要更高样品通量的实验室实现自动化。

## 参考资料

1. The Drug Driving (Specified Limits) (England and Wales) Regulations 2014 (as amended, Road Traffic Act, England and Wales, 2015 No.2015.(2014)

2. Honkanen, R *et al.* Role of Drugs in Traffic Accidents. *British Medical Journal*, 281, 1309–1312 (1980).
3. Drummer, OH *et al.* The Involvement of Drugs in Drivers of Motor Vehicles Killed in Australian Road Traffic Crashes. *Accident; Analysis and Prevention*, 36, 239–248 (2004).

---

## 特色产品

[ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <https://www.waters.com/134613317>](https://www.waters.com/134613317)

[Xevo TQ-S micro三重四极杆质谱仪 <https://www.waters.com/134798856>](https://www.waters.com/134798856)

[MassLynx MS软件 <https://www.waters.com/513662>](https://www.waters.com/513662)

[TargetLynx <https://www.waters.com/513791>](https://www.waters.com/513791)

720007451ZH, 2021年12月

© 2022 Waters Corporation. All Rights Reserved.